Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 18, No. 4, Oct- Nov. 2022, p. 514- 526

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۸، شماره ۴، مهر - آبان ۱۴۰۱ ص.۵۲۶-۵۱۴

Homepage: http://ifstrj.um.ac.ir
Full Research Paper

Production of nanoemulsion based on sweet almond and sesame oils using ultrasound and evaluation its properties

Masoumeh Heydari Gharehcheshmeh[1], Akram Arianfar*[1], Elham Mahdian[1], Sara Naji-Tabasi[2]

Received: 2021.02.23
Revised: 2021.10.18
Accepted: 2021.11.16
Available Online: 2023.01.04

How to cite this article:
Heydari Gharehcheshmeh, M., Arianfar, A., Mahdian, E., Naji-Tabasi, S. (2022). Production of nanoemulsion based on sweet almond and sesame oils using ultrasound and evaluation its properties. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*. *18* (4), 514-526.

Abstract

Introduction: Sesame oil and sweet almond oil are rich in unsaturated fatty acids and antioxidant components, providing nutritional and functional properties including improvement of the gastrointestinal system, decrease in blood cholesterol level, eventually leading to a decrease in the risk of cardiovascular disease. The present study examined the possibility of the production of emulsion based on sesame and sweet almond oils and the effect of preparation on its stability.

Material and methods: Sesame oil and sweet almond oil with tween 80 and span 80 as emulsifiers were used in emulsion production. In order to prepare the nanoemulsions, the water and oil phases were prepared separately by the ultrasonic homogenizer. Ultrasonic waves were applied for homogenization and the effect of Ultrasonic time (5, and 10 min), oil content (2, and 4%), and emulsifier concentration (0.25, 0.5%) on particle size, particle distribution index (PDI), turbidity loss rate, emulsion stability and zeta potential of nanoemulsions were studied.

Results and discussion: Ultrasonic time had a reverse effect on particle size, particle distribution index (PDI) and turbidity loss rate and a direct effect on emulsion stability. The particle size and turbidity loss rate of prepared emulsions had a direct relation with oil concentration and a negative effect on emulsion stability. Emulsifier concentration had a positive effect on emulsion stability, a negative effect on emulsion stability, and had no significant effect on turbidity loss rate. According to the results of the effect of type and concentration of oil on particle size distribution, turbidity reduction rate and stability of nanoemulsions in all cases, samples containing sesame oil with a concentration of 2% compared to sweet almond oil, had better results, the presence of this oil led to the formation of nanoemulsions with smaller particles and greater stability. The produced nanoemulsions had a particle size between 200-320 nm, a stability of 91-98/7% and a turbidity reduction rate of 0.0010-0.0027. Also, the highest stability and zeta potential were reported 98.7 % and -33mV respectively, which belonged to sample k4. Therefore, this sample was selected as the optimal sample.

The results showed that the particle size, mean particle diameter, particle dispersion and turbidity reduction rate showed a significant difference between the samples, so that the lowest and highest were related to K_4 sample (2% sesame oil, homogenization time 10 minutes and Emulsifier concentration ratio 0.5%) and sample B_5 (almond oil 4%, homogenization time 5 minutes and emulsifier concentration ratio 0.5%) ($p < 0.05$). The results also showed that the highest level of stability and zeta potential was related to K_4 sample. Thus, the best nanoemulsion, K4 sample was introduced.

1. Department of Food Science and Technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran.
2. Department of Food Nanotechnology, Research Institute of Food Science and Technology (RIFST), POBox: 91895-157.356, Mashhad, Iran.
(*Corresponding Author Email: a_aria_1443@yahoo.com)
DOI: 10.22067/IFSTRJ.2021.69078.1020

Keywords: Nanoemulsion, Particle size, Stability, sweet almond oil, sesame oil.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 18, No. 4, Oct- Nov. 2022, p. 514- 526

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۸، شماره ۴، مهر- آبان ۱۴۰۱ ص.۵۲۶-۵۱۴

مقاله علمی-پژوهشی

تولید نانوامولسیون بر پایه روغن بادام شیرین و کنجد با استفاده از امواج فراصوت و ارزیابی ویژگی‌های آن

معصومه حیدری قره‌چشمه[۱]- اکرم آریان‌فر[۱*]- الهام مهدیان[۱]- سارا ناجی طبسی[۲]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۰۵
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۷/۲۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۸/۲۵

چکیده

امروزه استفاده از نانوامولسیون‌ها در صنایع غذایی و دارویی به علت خواص عملکردی و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی منحصر به فردی که دارند، به‌طور فزاینده‌ای رو به افزایش است. کارایی بالا در محصورسازی ترکیبات، کدورت پایین، قابلیت دسترسی بالا و ثبات فیزیکی بالا از جمله این ویژگی‌ها هستند. در این پژوهش، از روغن بادام شیرین و کنجد به همراه توئین ۸۰ و اسپن ۸۰ (به‌عنوان امولسیفایر) در تولید نانوامولسیون استفاده شد. به‌منظور همگن‌سازی ذرات امولسیون از امواج فراصوت استفاده گردید و تاثیر شرایط مختلف فرآیند شامل غلظت روغن (۲ و ۴ درصد)، زمان همگن‌سازی (۵ و ۱۰ دقیقه) و غلظت امولسیفایر (۰/۲۵ و ۰/۵ درصد) بر متغیرهای وابسته شامل قطر ذرات، شاخص پراکنش ذرات، نرخ کاهش کدورت، پایداری و پتاسیل زتا نانوامولسیون‌ها مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به لزوم تهیه فاز آبی و فاز روغنی به‌طور جداگانه، منظور ازغلظت امولسیفایر، نسبت غلظت مونواولئات سوربیتان(اسپن ۸۰) به پلی‌سوربات (توین ۸۰) در فرمولاسیون تهیه نانوامولسیون می‌باشد. طبق نتایج با استفاده از پارامترهای فوق قادر به تولید ذراتی در ابعاد نانو و با پایداری فیزیکی مناسبی خواهیم بود. تشکیل، پایداری و خصوصیات نانوامولسیون‌ها اغلب به خصوصیات فیزیکوشیمیایی فاز روغن (قطبیت، حلالیت در آب، کشش سطحی، اندیس رفراکتیو، ویسکوزیته، رفتار فازی و پایداری) بستگی دارد. لذا طبق نتایج به‌دست آمده از تاثیر نوع و غلظت روغن بر توزیع اندازه ذرات، نرخ کاهش کدورت و میزان پایداری نانوامولسیون‌ها، در تمامی موارد نانوامولسیون‌های حاوی روغن کنجد با غلظت ۲ درصد نسبت به روغن بادام شیرین، از نتایج بهتر برخوردار بودند و حضور این روغن منجر به شکل‌گیری نانوامولسیون با ذرات ریزتر و پایداری بیشتری شد. نمونه‌های تولیدی دارای اندازه ذرات بین ۳۲۰- ۲۰۰ نانومتر، پایداری ٪۹۸/۷- ۹۱ و نرخ کاهش کدورت ۰/۰۰۲۷ -۰/۰۰۱۰بودند. نتایج نشان داد، میزان اندازه ذرات، میانگین قطر ذرات و نرخ کاهش کدورت میان نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری داشته، بطوریکه کمترین و بیشترین به‌ترتیب مربوط به نمونه K4 (روغن کنجد ۲ درصد، زمان همگن‌سازی ۱۰ دقیقه و نسبت غلظت امولسیفایر ۰/۵ درصد) و نمونه B5 (روغن بادام ۴ درصد، زمان همگن‌سازی ۵ دقیقه و نسبت غلظت امولسیفایر ۰/۵ درصد) بود. بیشترین میزان پایداری و پتاسیل زتا به‌ترتیب ٪۹۸/۵ و ۳۳- میلی‌ولت گزارش شد که مربوط به نمونه K4 بوده و طی زمان همگن‌سازی (زمان فراصوت) ۱۰ دقیقه و با افزودن روغن کنجد، تهیه شده بود. علاوه بر پایداری بالاتر این تیمار، از آنجاییکه در بین سایر تیمارها از کوچکترین ذرات (۲۰۰ نانومتر) برخوردار بود، فرمولاسیون نانوامولسیون k4، به‌عنوان فرمولاسیون بهینه برای انجام سایر آزمایش‌ها مانند پتانسیل زتا، کدورت، پایداری، توزیع اندازه ذرات و حصول اندازه قطره‌ها درمقیاس نانو انتخاب شد.

واژه‌های کلیدی: نانوامولسیون، قطر ذرات، پایداری، روغن بادام شیرین، روغن کنجد.

مقدمه

امولسیون‌ها، تعلیق‌های کلوئیدی ناهمگنی هستند که از اختلاط دو مایع غیرقابل امتزاج تشکیل می‌شوند. این سامانه‌ها از نظر ترمودینامیکی ناپایدار بوده و ممکن است به تدریج پایداری خود را از دست بدهند (Deman, 1990). در سامانه‌های امولسیونی، ویژگی‌هایی مانند پایداری، رئولوژی، ظاهر، رنگ و بافت بستگی به اندازه قطرات و توزیع اندازه قطرات آنها دارد (Tadros et al., 2004). به‌طورکلی، اندازه قطرات امولسیون‌ها به عوامل متعددی وابسته است که مهم‌ترین آن‌ها، روش و شرایط تولید و نیز نوع و غلظت ترکیبات تشکیل دهنده آن‌ها می‌باشد (Gutierrez et al., 2008). مکانیسم‌های فیزیکوشیمیایی

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران.
۲- گروه نانو فناوری مواد غذایی، موسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران.

* - نویسنده مسئول: Email: a_aria_1443@yahoo.com
DOI: 10.22067/IFSTRJ.2021.69078.1020

متعددی از جمله خامه‌ای شدن[3]، انعقاد، لخته شدن[4] و تورم استوالد[5] سبب بی‌ثباتی امولسیون می‌شوند (Coupland et al., 2001). برای حفظ پایداری امولسیون از یک سورفکتانت یا امولسیفایر استفاده می شود که با جذب در سطح قطرات غشای محافظ را ایجاد و با کاهش کشش بین سطحی از تجمع و بهم پیوستن ذرات فاز پراکنده و در نهایت جدایش کامل دو فاز، جلوگیری می‌کند. افزودن امولسیفایر به مخلوط آب و روغن سبب کاهش کشش سطحی و تثبیت امولسیون می‌گردد. ترکیبات گوناگونی به‌عنوان امولسیفایر شناخته شده‌اند. پروتئین‌ها، دسته‌ای از امولسیفایرها هستند که قادرند امولسیون‌هایی با ذرات کوچک ایجاد کنند اما اندازه ذرات امولسیون در طول زمان افزایش یافته و سبب ناپایداری امولسیون می‌گردد. متوسط قطر ذرات امولسیون‌های پایدار شده توسط پلی‌ساکاریدها، بالا است اما این ذرات دارای مقاومت بالا در برابر استرس‌های محیطی و افزایش اندازه ذرات هستند (Harnsilawat et al., 2006). بنابراین با کاربرد گروه‌های امولسیفایری مذکور قادر نیستیم امولسیون‌هایی با قطر ذرات کوچک و پایداری بالا در طول زمان تولید کنیم (Qian et al., 2011). پلی سوربات‌ها و استرهای سوربیتان گروهی از ترکیبات فعال سطحی غیریونی مورد استفاده در صنایع غذایی و دارویی هستند. این ترکیبات قادرند امولسیون‌هایی با اندازه ذرات کوچک و پایداری بالا در هنگام نگهداری تولید کنند این امولسیفایرها با توجه به در دسترس بودن، ایمنی و هزینه قابل قبول، به‌طور گسترده در صنایع غذایی استفاد می‌شوند (Leong et al., 2009). امولسیون‌ها را از روی اندازه قطرات امولسیون، به میکرو (۱۰ تا ۱۰۰ نانومتر)، نانو (۱۰۰ تا ۱۰۰۰ نانومتر) و ماکرو (۰/۵ تا ۱۰۰ میکرومتر) تقسیم می‌کنند (Gutierrez et al., 2008).

نانوامولسیون‌ها، امولسیون‌های حقیقی با قطراتی با اندازه بی نهایت کوچک هستند که از این لحاظ تشابه زیادی با میکروامولسیون‌ها دارند. اما برخلاف میکروامولسیون‌ها، که آنها هم شفاف یا نیمه‌شفاف و به‌صورت ترمودینامیکی پایدار هستند، نانوامولسیون‌ها فقط به‌صورت سینتیکی پایدارند. به بیان دیگر، میکروامولسیون‌ها سامانه‌های تعادلی هستند، یعنی تعادل ترمودینامیکی دارند، در حالی که نانوامولسیون ها سامانه‌های غیرتعادلی با یک تمایل خودبه‌خودی به جدا شدن به فازهای تشکیل‌دهنده هستند. البته، نانوامولسیون‌ها ممکن است تعادل سینتیکی نسبتا بالایی را حتی برای چندین سال داشته باشند و این طولانی بودن دوره پایداری فیزیکی موجب متمایز شدن آن‌ها شده است (Solans et al., 2005).

اساساً فرایند امولسیون‌سازی شامل دو مرحله است؛ در مرحله نخست، با تغییر شکل و شکستن قطرات، سطح ویژه امولسیون افزایش داده می‌شود اما در مرحله دوم، با استقرار مواد فعال سطحی یا امولسیفایرها در سطح مشترک فازها، علاوه بر پایدارسازی، از به هم‌پیوستن مجدد قطرات تشکیل شده جدید جلوگیری می‌شود. به این ترتیب، معمولاً برای انجام مرحله نخست تجهیزات مختلفی مثل مخلوط‌کن‌های ساده، مخلوط‌کن‌های با سرعت برشی بالا، همگن سازهای با فشار بالا، همگن‌سازهای دارای حرکت گردابی، همگن سازهای فراصوت، و همگن‌سازهای آسیاب کلوئیدی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Silva et al., 2012). بهینه‌سازی ویژگی‌های نانوامولسیون-ها از طریق بهینه کردن متغیرهای مربوط به ترکیبات و نیز متغیرهای مربوط به روش و شرایط تهیه آنها ممکن خواهد بود. اهداف عمده و نهایی در بهینه‌سازی ویژگی‌های نانوامولسیون‌ها اغلب رسیدن به حداقل اندازه قطرات، حداقل بس‌پاشیدگی و حداکثر پایداری است (Tadros et al., 2004). به‌طورکلی، تولید نانوامولسیون‌ها به دو روش ممکن است: امولسیون‌سازی با انرژی پایین (فرایند میکروامولسیون-سازی) و امولسیون‌سازی با انرژی بالا که روش دوم، به دلیل کنترل توزیع اندازه قطرات امولسیون و قابلیت تولید امولسیون‌هایی مناسب و با تنوع زیاد، قابلیت کاربرد صنعتی بیشتری دارد و تهیه نانوامولسیون‌ها به روش امولسیون‌سازی با انرژی بالا با استفاده از تجهیزاتی از جمله آسیاب‌های کلوئیدی، همگن‌سازهای با سرعت یا فشار بالا، و همگن سازهای فراصوت ممکن است. در این میان، همگن‌سازهای فراصوت کارایی بالایی برای کاهش اندازه قطرات و دستیابی به حداقل بس-پاشیدگی و در نتیجه پایداری نانوامولسیون دارند (Silva et al., 2012). امواج فراصوت با شدت بالا از طریق ظهور اثرات مکانیکی پدیده حفره‌زایی، یعنی ایجاد نیروهای برشی شدید و اعمال فشار و دما قادر به ایجاد تغییر در ویژگی‌های مواد تحت فرآیند هستند (Rao et al., 2011; Li and Chiang, 2012).

از جمله مزایای نانوامولسیون‌ها، ریز بودن اندازه قطرات است که در مقایسه با امولسیون‌های معمولی کاربرد بیشتری دارند (Silva et al., 2012). خیلی ریز بودن اندازه قطرات نانوامولسیون‌ها نیز موجب می‌شود در طی نگهداری پدیده‌های خامه‌ای شدن و تشکیل رسوب اتفاق نیفتند، زیرا ریز بودن قطرات مانع به‌هم پیوستگی و فلوکه شدن سطحی می‌گردد. همچنین، به‌واسطه خیلی ریز بودن قطرات، نانوامولسیون‌ها سطح ویژه زیادی دارند و به همین دلیل قابلیت نفوذ خیلی بالایی داشته و این ویژگی آنها را به یک سامانه انتقالی موثر تبدیل کرده است. ضمناً، برخلاف امولسیون‌ها که به غلظت بالایی از

3 Creaming
4 Flocculation
5 Ostwald Ripening

سورفاکتانت نیاز دارند، نانوامولسیون‌ها در حضور غلظت پایین‌تری از این مواد تشکیل می‌شوند.

Qian و همکاران (۲۰۱۱)، گزارش کردند نانوامولسیون‌های روغن ذرت تهیه شده با سورفاکتانت‌های کوچک مولکول در مقایسه با نمونه های تولید شده با پروتئین‌ها، اندازه قطرات کوچکتری داشتند (Qian et al., 2011). اصولاً، شکل‌گیری قطرات نانوامولسیون به‌واسطه برهم‌کنش دو پدیده، یعنی شکستن قطرات و به‌هم پیوستن قطرات تشکیل شده کنترل می‌شود. در این میان، نرخ به‌هم پیوستگی قطرات توسط فعالیت سطحی و غلظت امولسیفایر تعیین می‌شود. از آنجاییکه روغن بادام شیرین شامل درصد بالایی از اسید چرب غیراشباع (اولئیک اسید و لینولئیک اسید) و روغن کنجد حاوی اسید لینولئیک تا حدود ۴۱ درصد و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی همچون توکوفرول و ترکیبات فنلی می باشند، می‌توانند میزان کلسترول و زمینه ابتلا به سرطان را کاهش دهد (Jacobsen, 2010). روغن کنجد در مقایسه با سایر روغن‌های گیاهی، مواد غیرقابل صابونی (حدود ۲ درصد) بیشتری دارد. مواد غیرقابل صابونی شامل استرول‌ها، تری ترپن‌ها و تری ترپن الکل‌ها، توکوفرول ها و لیگنان‌های کنجد می‌باشد. این روغن یکی از منابع غنی استرول‌های گیاهی (فیتواسترول) می‌باشد. مصرف فیتواسترول موجب کاهش کلسترول خون و در نتیجه جلوگیری از حملات قلبی و عروقی می‌شود. با توجه به خصوصیات ذکر شده، در این تحقیق، جهت تهیه نانوامولسیون به کمک امواج فراصوت، از دو نوع روغن کنجد و بادام شیرین به‌صورت جداگانه و در دو غلظت ۲ و۴٪، همراه با اسپن و توبین۸۰ (به‌عنوان امولسیفایر) استفاده شد و تاثیر زمان همگن‌سازی (زمان فراصوت)، غلظت امولسیفایر و روغن بر روی قطر ذرات، شاخص پراکنش ذرات، نرخ کاهش کدورت، پایداری و پتاسیل زتا، مورد بررسی گردید.

جدول ۱- تیمارهای مورد بررسی

Table 1- The treatments examined

Ratio of emulsifier concentration (span to tween) نسبت غلظت امولسیفایر (اسپن به توبین)	Sonication time (min) زمان فراصوت (دقیقه)	Oil روغن	Sample Code کد نمونه
0.25	5	Sesame کنجد 2٪	K_1
0.25	10	Sesame کنجد 2٪	K_2
0.5	5	Sesame کنجد 2٪	K_3
0.5	10	Sesame کنجد 2٪	K_4
0.5	5	Sesame کنجد 4٪	K_5
0.5	10	Sesame کنجد 4٪	K_6
0.25	5	Sweet almonds بادام شیرین 2٪	B_1
0.25	10	Sweet almonds بادام شیرین 2٪	B_2
0.5	5	Sweet almonds بادام شیرین 2٪	B_3
0.5	10	Sweet almonds بادام شیرین 2٪	B_4
0.5	5	Sweet almonds بادام شیرین 4٪	B_5
0.5	10	Sweet almonds بادام شیرین 4٪	B_6

مواد و روش‌ها

روغن بادام شیرین و روغن کنجد از بازار محلی تهیه شد. پلی‌سوربات ۸۰، مونواولئات سوربیتان (Span 80) و سایر مواد آزمایشگاهی مورد نیاز جهت انجام آزمون‌ها، از شرکت مرک آلمان خریداری گردید.

روش تهیه نانو امولسیون روغن بادام شیرین و روغن کنجد در آب

به‌منظور تهیه نانو امولسیون‌مورد نظر در دو غلظت ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد، طی دو زمان فراصوت ۵ و ۱۰ دقیقه، توسط دو روغن کنجد و بادام شیرین، در دو غلظت ۲و ۴ درصد، فاز آبی و فاز روغنی هر کدام به‌صورت جداگانه تهیه شدند. جهت آماده‌سازی نانوامولسیون بر پایه روغن کنجد، با غلظت ۰/۲۵٪ امولسیفایر (نسبت اسپن۸۰ به توبین ۸۰)، نخست به‌منظور تهیه فاز آبی، cc ۴ پلی‌سوربات یا توئین ۸۰ (امولسیفایر فاز آبی) به آب بدون یون در دمای محیط اضافه شد. محلول حاصل توسط همزن به مدت ۱۰ دقیقه همزده شد. فاز روغنی نیز با افزودن cc ۱ مونواولئات سوربیتان یا اسپن ۸۰ (امولسیفایر فاز روغنی) به cc ۲ و ۴cc از روغن کنجد آماده گردید. امولسیون اولیه (پیش امولسیون) با افزودن فاز روغنی به‌صورت قطره قطره به فاز آبی که توسط همزن مغناطیسی با دور ۵۰۰ دور در دقیقه در حال همگن شدن بود، تهیه شد. پس از افزودن کامل فاز روغنی، فرایند همگن‌سازی توسط همزن به مدت ۱۵ دقیقه ادامه پیدا کرد. در مرحله بعد، همگن‌سازی توسط همزن با دور بالاو با سرعت ۶۵۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. به‌منظور شکسته شدن هرچه بیشتر قطرات روغن، پیش امولسیون تهیه شده به‌وسیله همگن‌ساز فراصوت مجهز به پروب تیتانیوم با قطر ۷ میلی‌متر، فرکانس ۵۰ کیلوهرتز ، همگن گردید. به این ترتیب نانوامولسیون نهایی حاصل شد (Homayounfal et al., 2013). در تهیه نانوامولسیون با غلظت امولسیفایر ۰/۵٪، تمامی مراحل یکسان بوده، با این تفاوت که فاز آبی، از افزودن cc ۲، پلی‌سوربات به آب بدون یون، در دمای محیط تهیه گردید. همین روش، جهت آماده‌سازی نانوامولسیون بر پایه روغن بادام شیرین نیز به‌کارگرفته شد. در جدول ۱، تمامی تیمارها با توجه به زمان فراصوت، غلظت امولسیفایر، نوع و غلظت روغن به‌کار رفته، با علامت اختصاری معرفی شده‌اند.

اندازه‌گیری میانگین قطر ذرات امولسیون

متوسط اندازه قطره های نانوامولسیون تولید شده بر اساس میانگین قطر حجمی، در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، براساس پراکنش نور لیزر (Vasco3– Cordouan، فرانسه) اندازه‌گیری و نتایج حاصل توسط نرم افزار دستگاه سنجش اندازه ذرات و طبق مدل فرانهوفر به صورت رابطه ۱، گزارش شد. در این رابطه، $D\,[4, 3]$ میانگین قطر حجمی (میانگین حجم معادل)[1] و n_i تعداد قطرات با قطرd_i بود (Pezeshky Najafabadi et al., 2018).

$$D[4,3] = \frac{\sum n_i d_i^{\,4}}{\sum n_i d_i^{\,3}} \quad (۱)$$

شاخص پراکنش ذرات

توزیع اندازه ذرات نیز با استفاده از رابطه ۲ محاسبه شد (Pezeshky Najafabadi et al., 2018).

$$\text{Span} = \frac{D(90\%) - D(10\%)}{D(50\%)} \quad (۲)$$

Span: معیار پراکندگی ذرات حول (۵۰٪) D

(۹۰٪) D: قطری که حجم ذرات کوچکتر از آن، ۹۰ درصد حجم کل ذرات موجود در سیستم را تشکیل می‌دهد.

(۵۰٪) D: قطری که حجم ذرات کوچکتر از آن، ۵۰ درصد حجم کل ذرات موجود در سیستم را تشکیل می‌دهد (قطر میانه).

(۱۰٪) D: قطری که حجم ذرات کوچکتر از آن، ۱۰ درصد حجم کل ذرات موجود در سیستم را تشکیل می‌دهد.

اندازه‌گیری نرخ کاهش کدورت

نمونه‌ها پس از انتقال به بطری‌های ۳۰۰ سی‌سی به‌صورت ثابت و بدون کوچکترین تحرک به مدت ۲۴ ساعت، در دمای محیط ۲۵درجه سانتی‌گراد، نگهداری شد. مقداری نمونه با فاصله ۴ سانتی‌متر از انتهای بطری برداشته و جذب آن در طول موج ۵۰۰ نانومتر به‌وسیله اسپکتروفتومتر (UV-VIS، Specord 210plus، Analytikjena، لمان) بررسی شد. جذب بالاتر نمونه‌ها بیانگر کدورت و پایداری بیشتر آن‌ها بود. جذب نمونه‌ها تا زمانی قرائت می‌شود که جذب به ۱۰ درصد جذب اولیه برسد. سپس نمودار جذب نسبت به زمان ترسیم شده و شیب خط حاصل به عنوان نرخ کاهش کدورت در نظر گرفته شدکه با پایداری نمونه‌ها رابطه عکس دارد (Floury et al., 2007).

اندازه‌گیری پایداری نانوامولسیون[2] (ESI)

در این آزمون، پس از تهیه امولسیون، ۱۵ میلی‌لیتر از نمونه به داخل لوله آزمایش ریخته و به طرز مناسبی دربندی شد تا از هرگونه تبخیر جلوگیری شود و حساسیت آن به جدایش گرانشی به‌وسیله اندازه گیری میزان لایه خامه‌ای شده یا ته نشین شده پس از ۲۴ ساعت نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به کمک رابطه ۳ تعیین گردید.

1 Debroukere Mean

2 Emulsion Stablity Index

در این رابطه ارتفاع لایه جدا شده در بالای لوله (HC) اندازه‌گیری و شاخص پایداری نانوامولسیون برحسب ارتفاع اولیه امولسیون (HE) و ارتفاع لایه خامه‌ای شده با استفاده از رابطه ۳ محاسبه شد (Chanamai & McClements, 2001).

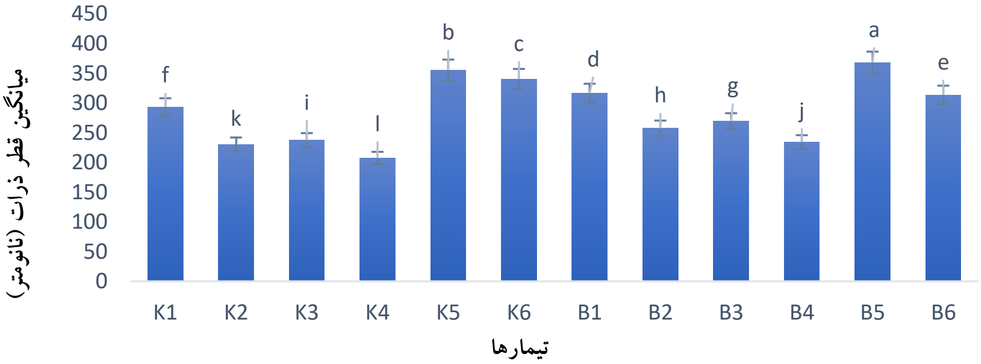
$$ESI = 100 \times \frac{HE - HC}{HE} \quad (۳)$$

پتانسیل زتا

برای مشخص شدن نحوه عمل نیروهای دافعه الکتروستاتیک بین قطره های نانوامولسیون و میزان پایداری سیستم حاصل از نتایج تحرک الکتروفورتیک و پتانسیل زتا، از دستگاه زتا سایزر (Nano- ،Malvern ZS90، انگلستان) استفاده شد. برای این منظور نمونه مورد نظر ابتدا با استفاده از آب مقطر ۱۰ برابر رقیق شده، سپس توسط سرنگی داخل لوله موئین منتقل و لوله موئین در محل مخصوص در داخل دستگاه قرار گرفت. پتانسیل زتا بر اساس فرکانس نوسان شدت نور و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد. (Fatouros and Antimisiaris, 2002).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تمامی آزمایشات در سه تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری نتایج از طریق تجزیه واریانس در قالب طرح کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح آماری ۵ درصد صورت گرفت. برای مدل‌سازی و تجزیه تحلیل از نرم‌افزار SPSS۱۸ و جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel (۲۰۱۳) استفاده شد.



شکل ۱- بررسی میانگین قطر ذرات (نانومتر) در نمونه‌های مختلف نانو امولسیون تهیه شده از روغن کنجد و بادام شیرین

Fig. 1. Investigation of the average diameter of particles (nanometers) in different samples of nanoemulsion prepared from sesame and sweet almond oil

نتایج و بحث

اندازه‌گیری میانگین قطر ذرات امولسیون

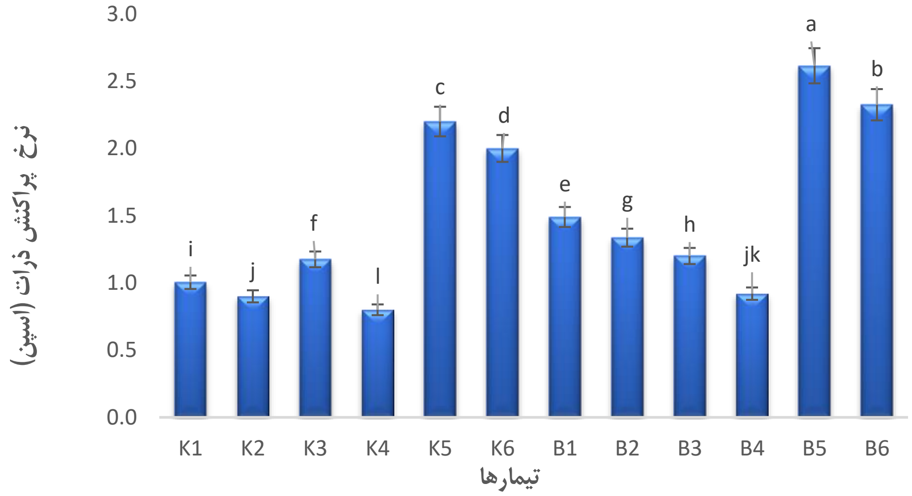
قطر ذرات در نمونه‌های مختلف نانو امولسیون تهیه شده از روغن کنجد و بادام شیرین در شکل ۱ آورده شده است. همان‌گونه که در شکل مشاهده می‌شود، تمامی نمونه‌ها با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارد ($p<0.05$)، به‌طوری که کمترین و بیشترین میزان میانگین قطر ذرات به‌ترتیب مربوط به نمونه K_4 و B_5 بود. قطر متوسط ذرات به‌دست آمده تابع شدت برش است که از طریق دانسیته نیرو بیان می‌شود اما به زمان باقی ماندن در شدت برش نیز بستگی دارد. Schubert و Karbstein (۱۹۹۵) اعلام کردند این وابستگی بین زمان باقی ماندن و متوسط اندازه به دلیل توزیع نامتوازن دانسیته نیرو در ناحیه فاز پراکنده است (Karbstein and Schubert, 1995).

هر قدر زمان باقی‌ماندن در فرآیند افزایش یابد، ذرات شکسته شده روغن فرصت بیشتری خواهند داشت تا توسط امولسیفایر پوشیده شده و سبب جلوگیری از افزایش قطر ذرات می‌گردد. به دلیل این که عدم کفایت زمان سبب به هم پیوستن مجدد قطرات تازه شکل گرفته و در نهایت منجر به شکل‌گیری ذرات روغن با قطر بیشتر خواهد شد. (Chanamai & McClements, 2001; Buffo et al., 2001).

بخشی از این اثر به دلیل محدودیت امولسیفایر در دسترس در امولسیون تولیدی است. بنابراین برخلاف تولید ذرات بسیار کوچک در طی فرایند هموژنیزاسیون، به دلیل کمبود ماده فعال سطحی، این ذرات سریعاً به یکدیگر چسبیده و منجر به کاهش کارایی فرایند همگن‌سازی می‌شود. از سوی دیگر افزایش شدت فرایند هموژنیزاسیون سبب تخریب غشای تشکیل شده توسط امولسیفایر شده و در نهایت سبب به هم پیوستن شدیدتر ذرات و افزایش قطر قطرات می‌گردد (Gharibzahedi et al., 2012; Kourniatis et al., 2010).

در مورد کاهش قطر قطرات ذرات تشکیل‌دهنده امولسیون با افزایش غلظت امولسیفایرهای به کار برده شده می‌توان این گونه توضیح داد که با افزایش غلظت امولسیفایرها، احتمال پوشش قطرات فاز پراکنده به وسیله امولسیفایرهای مورد استفاده (توئین ۸۰ و اسپن

۸۰ با نسبت اسپن به توئین: ۰/۵) افزایش می‌یابد. در نتیجه ذراتی که در زمان هموژن‌سازی کوچک شده‌اند، در غلظت‌های بالاتر امولسیفایرها بهتر پوشش داده می‌شوند (Unji et al., 1994; Harnsilawat et al., 2006). البته باید این نکته را در نظر گرفت که افزودن میزان بالای اسپن ۸۰، سیستم امولسیون را به میزان زیادی هیدروفوب کرده که در نتیجه قادر نخواهد بود امولسیون‌های روغن در آب را پایدار کند (Kentish et al., 2006). طی بررسی تاثیر نوع روغن بکارگرفته شده بر روی میانگین قطر ذرات برحسب نانومتر و طبق نتایج حاصل شده، در نانو امولسیون تهیه شده بر پایه روغن کنجد، ذرات ریزتر و کوچکتری گزارش گردید. با توجه به اینکه ویسکوزیته روغن بر سرعت مولکول‌های امولسیفایر غیریونی، در حرکت از فاز آلی به فاز آبی، مؤثر است، می‌توان انتظار داشت با کاهش ویسکوزیته روغن، مولکول‌های سورفاکتانت سریع‌تر حرکت کرده و بنابراین، قطره‌های کوچک‌تر تولید شود. همچنین کاهش کشش بین سطحی باعث تحرک بیشتر بین سطح شده و تشکیل قطره‌های ریز محتمل‌تر می‌شود. به همین علت ریزترین ذرات (۲۰۰ نانومتر) در تیمار k4 حاوی روغن کنجد و با حضور امولسیفایر در غلظت بالاتر (۰/۵٪) گزارش شد. Masah و همکاران (۲۰۱۳)، نیز در تحقیق خود روی تولید نانوامولسیون حاوی ویتامین E گزارش کردند در غلظت‌های بالاتر سورفاکتانت اندازه قطره‌ها کاهش می‌یابد (Masah et al., 2013). دلیل دیگری را که می‌توان علت افزایش اندازه قطره‌ها در غلظت‌های بالای سورفاکتانت دانست انبوهش ناشی از خالی شدن است. با افزایش زیاد غلظت سورفاکتانت، بخشی از آنها به جای قرار گرفتن در سطح، در توده قرار می‌گیرند و میسل‌های سورفاکتانت تشکیل می‌شود که باعث افزایش فشار اسمزی محلی در سیستم می‌شود. در نتیجه فاز پیوسته بین قطره‌ها به این مکان منتقل می‌گردد و موجب انبوهش (فلاکولاسیون[1])، ناشی از خالی شدن فاز پیوسته بین دو قطره می‌گردد (Ghanbarzadeh et al., 2013).



شکل۲- نرخ پراکنش ذرات (اسپن) در نمونه‌های مختلف نانو امولسیون تهیه شده از روغن کنجد و بادام شیرین

Fig. 2. The dispersion rate of particles (span) in different nanoemulsion samples prepared from sesame and sweet almond oil

شاخص پراکنش ذرات

شاخص اندازه پراکنش ذرات برحسب اسپن، در نمونه‌های مختلف نانو امولسیون تهیه شده از روغن کنجد و بادام شیرین در شکل ۱ آورده شده است. همان‌گونه که در شکل ۱، مشاهده می‌شود، تمامی نمونه‌ها با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارد ($p<0.05$)، به‌طوری که کمترین و بیشترین میزان اندازه ذرات به‌ترتیب مربوط به نمونه K_4 و B_5 بود. به‌طورکلی امولسیون‌ها به‌وسیله فرایندهای برشی فیزیکی تهیه می‌شوند، اندازه نهایی امولسیون‌های هموژن شده به‌وسیله تقابل دو فرایند متضاد متلاشی شدن قطرات و به‌هم‌پیوستن دوباره قطرات تعیین می‌شود. فرکانس هر دو فرایند به‌وسیله برش‌های شدیدی که در همگن‌سازهای با برش بالا از قبیل فراصوت ایجاد می‌شود، تعیین می‌گردد. متلاشی شدن قطرات زمانی اتفاق می‌افتد که نیروی برشی به‌کار رفته بزرگتر از فشار لاپلاس امولسیون باشد (Homayounfal et al., 2013).

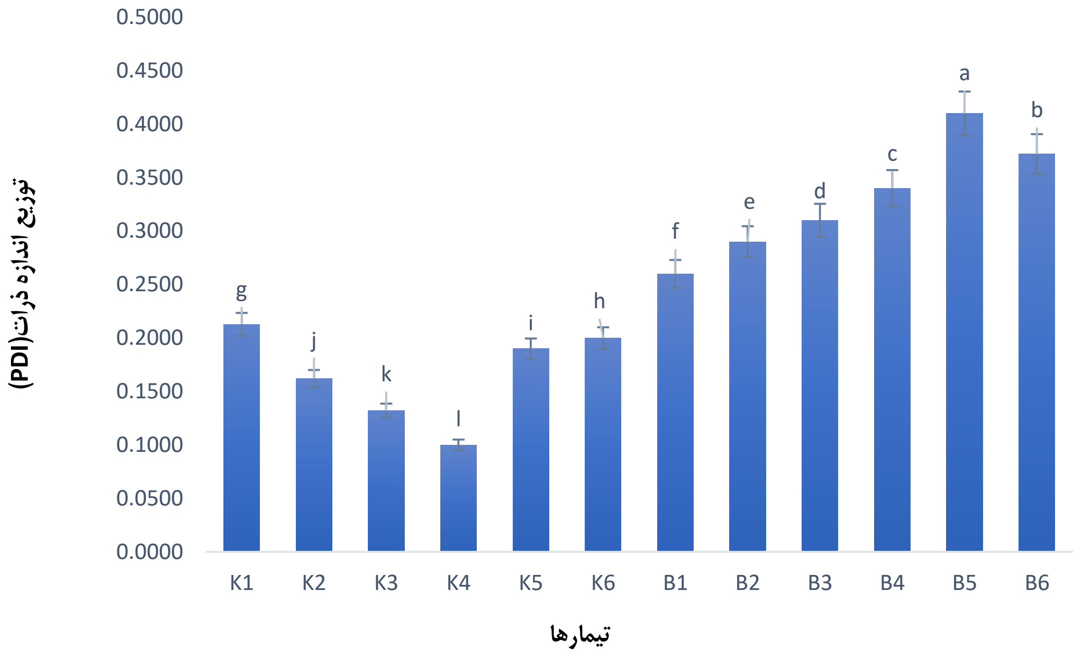
میزان روغن با اندازه ذرات امولسیون ارتباط مستقیم دارد. علت این پدیده را می‌توان این گونه توضیح داد که احتمالاً در غلظت‌های بالای روغن، امولسیفایر کافی برای پوشاندن ذرات روغن تازه شکل گرفته وجود ندارد. در نتیجه ذرات جدید شکل گرفته، به یکدیگر پیوسته و ذرات بزرگ‌تری را ایجاد می‌کنند. از سوی دیگر افزایش درصد روغن از ۲ به ۴ درصد ،باعث افزایش ویسکوزیته فاز پراکنده شده و سبب

[1] Flocculation

کاهش نرخ برش در طول فرایند هموژنیزاسیون و نهایتاً کاهش کارایی فرایند همگن‌سازی و ایجاد ذرات بزرگتر می‌گردد (Chanamai and McClements, 2001; Gharibzahedi et al., 2012).

توزیع اندازه ذرات

توزیع اندازه ذرات بعد از تعیین نوع امولسیون مهم‌ترین ویژگی یک امولسیون محسوب می‌شود زیرا پایداری و گرانروی امولسیون تابع اندازه قطرات و توزیع آن است . توزیع اندازه ذرات در نمونه‌های مختلف نانو امولسیون تهیه شده از روغن کنجد و بادام شیرین در شکل ۳ آورده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، تمامی نمونه‌ها با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارند ($p<0.05$)، به‌طوری که کمترین و بیشترین توزیع اندازه ذرات به ترتیب مربوط به نمونه K_4 (روغن کنجد ۲ درصد، زمان همگن‌سازی ۱۰ دقیقه و نسبت غلظت امولسیفایر ۰/۵ درصد) و B_5 (روغن بادام ۴ درصد، زمان همگن‌سازی ۵ دقیقه و نسبت غلظت امولسیفایر ۰/۵ درصد) بود. به همان نسبت میانگین قطر ذرات نمونه K4 نیز کمتر از B_5 است. باتوجه به شکل ۲ و ۳، با کاهش قطر ذرات، توزیع اندازه ذرات محدودتر می‌شود.. مقادیر شاخص توزیع اندازه ذرات در تمام نمونه‌ها در زیر ۰/۳ مشاهده شد که نشانگر قابل قبول بودن توزیع اندازه ذرات است. اگرچه در نمونه B_5 این مقدار۰/۴ حاصل شده که بیشترین مقدار است و میزان امولسیفایر و مدت همگن‌سازی از عوامل موثر در افزایش هستند.



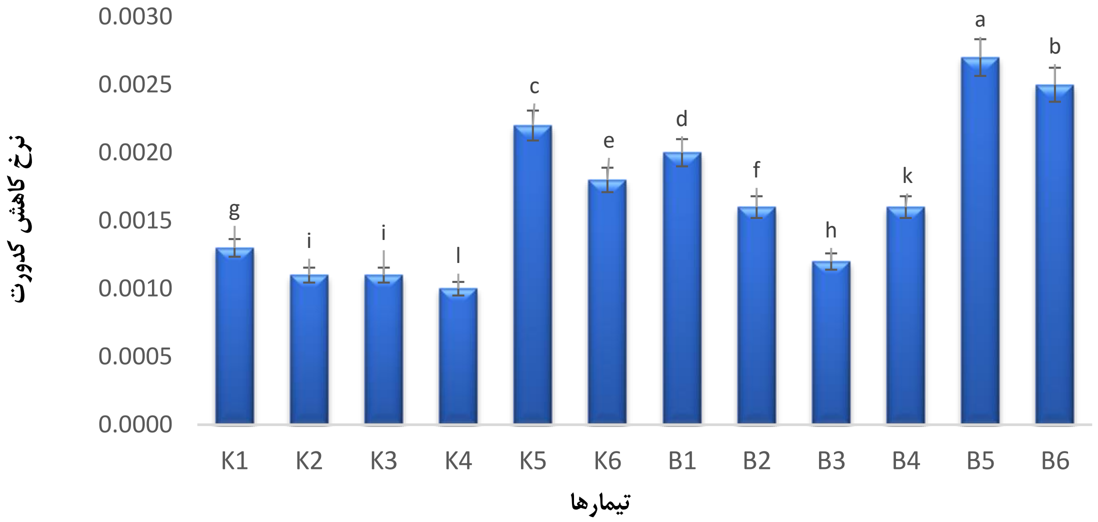
شکل ۳- بررسی توزیع اندازه ذرات در نمونه‌های مختلف نانو امولسیون تهیه شده از روغن کنجد و بادام شیرین

Fig. 3. Investigation of particle size distribution in different samples of nanoemulsion prepared from sesame and sweet almond oil

در تهیه نانوامولسیون ترکیب اجزاء و نسبت سورفاکتانت به امولسیون بر توزیع اندازه ذرات تاثیرگذار است (Komaiko and McClements, 2014). اگر غلظت امولسیفایر در سیستم برای پوشاندن کامل لایه بین سطحی روغن- آب کم باشد، درهم‌آمیختن و تجمع قطره‌ها رخ می‌دهد. دلیل کاهش اندازه قطره‌ها با افزایش غلظت سورفاکتانت را می‌توان در افزایش جذب مولکول‌های سورفاکتانت به سطح روغن–آب و در نتیجه کاهش بیشتر کشش سطحی بیان نمود. همچنین افزایش غلظت سورفاکتانت موجب می‌شود تا تعداد مولکول های بیشتری از سورفاکتانت از فاز روغنی به فاز آبی پخش شوند و تولید قطره‌ها ریز امولسیون آسان‌تر گردد (Saberi et al., 2013; Guttoff et al., 2015). در مورد بررسی تاثیر نوع روغن بکارفته بر این فاکتور نیز می‌توان گفت، از آنجاییکه تشکیل، پایداری و خصوصیات نانوامولسیون‌ها اغلب به خصوصیات فیزیکوشیمیایی فاز روغن بستگی دارد، حضور روغن کنجد با توجه به قطبیت و کشش بین سطحی آن منجر به تشکیل نانوامولسیون با سایز ذرات ریزتر و توزیع اندازه ذرات یا عدد شاخص پراکندگی پایینتری در مقایسه با روغن بادام شیرین خواهد بود.

نرخ کاهش کدورت

نرخ کاهش کدورت در نمونه‌های مختلف نانو امولسیون تهیه شده از روغن کنجد و بادام شیرین در شکل ۴، آورده شده است. همانگونه که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، تمامی نمونه‌ها با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارد ($p<0.05$)، به‌طوری که کمترین و بیشترین میزان نرخ کاهش کدورت به‌ترتیب مربوط به نمونه K_4 و B_5 بود.



شکل ٤- بررسی نرخ کاهش کدورت در نمونه‌های مختلف نانو امولسیون تهیه شده از روغن کنجد و بادام شیرین

Fig. 4. Investigation of turbidity reduction rate in different samples of nanoemulsion prepared from sesame and sweet almond oil

نرخ کاهش کدورت ناشی از به‌هم پیوستن ذرات فاز پراکنده و در نتیجه کاهش جذب نوری امولسیون‌ها است. افزایش غلظت امولسیفایر مورد استفاده، موجب کاهش نرخ کدورت نمونه‌ها گردید. افزودن غلظت‌های متفاوت از امولسیفایر به نمونه‌های تهیه شده موجب می‌شود تا لایه‌های با ضخامت متفاوت از امولسیفایر در اطراف قطرات روغن شکل بگیرد. در غلظت‌های بالاتر امولسیفایر به علت در دسترس بودن بیشتر امولسیفایر، لایه‌های ضخیم‌تری از آن در اطراف قطرات روغن قرار گرفته است. در نتیجه قطر این قطرات کمتر مورد تغییر قرار گرفته و موجب کاهش در میزان نرخ کدورت شده است (Taherian et al., 2006). به‌عبارتی، غلظت های بالاتر امولسیفایر سبب افزایش ویسکوزیته فـاز پیوسته شده و سرعت حرکت فاز پراکنده به سطوح بالایی را کـاهش داده و در نتیجه سـبب تـأخیر در کـدورت نمونـه هـا می‌گردد. Pezeshky Najafabadi و همکاران (۲۰۱۸)، بیان نمودند ارتباط خطی میان جذب نور و محتوای روغن در نانوامولسیون‌ها وجود دارد (Pezeshky Najafabadi et al., 2018).

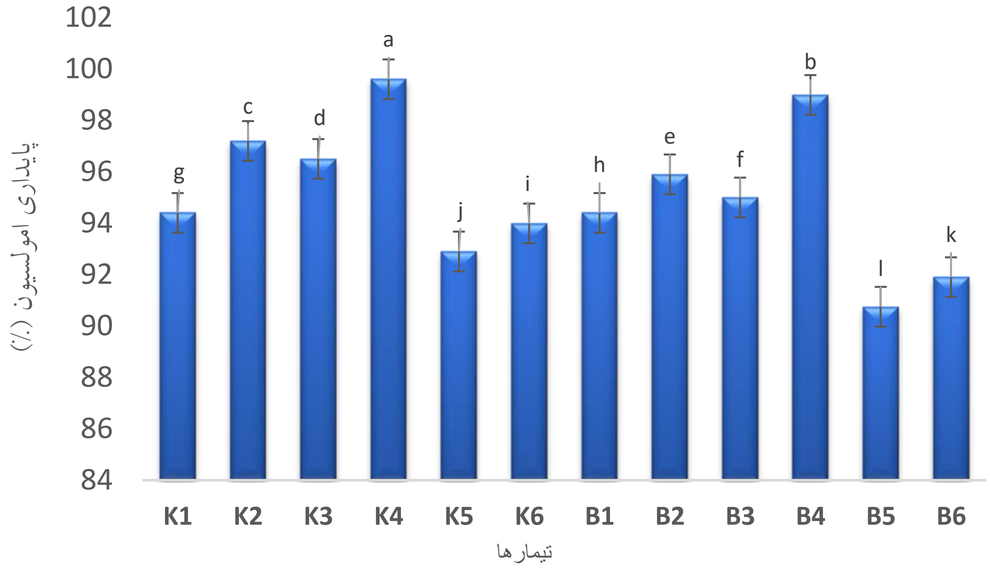
پایداری نانو امولسیون

پایداری در نمونه‌های مختلف نانو امولسیون تهیه شده از روغن کنجد و روغن بادام شیرین در شکل ۵ آورده شده است. همانگونه که در شکل مشاهده می‌شود، تمامی نمونه‌ها با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارد ($p<0.05$)، به‌طوری که کمترین و بیشترین میزان پایداری ذرات به‌ترتیب مربوط به نمونه B_5 (روغن بادام ۴ درصد، زمان همگن‌سازی ۵ دقیقه و نسبت غلظت امولسیفایر ۰/۵ درصد) و K_4 (روغن کنجد ۲ درصد، زمان همگن‌سازی ۱۰ دقیقه و نسبت غلظت امولسیفایر ۰/۵ درصد) بود.

اصولاً یکی از مولفه‌های مهم در ارزیابی امولسیون‌ها پایداری است؛ میزان پایداری هر سامانه امولسیونی بستگی زیادی به نوع و مقدار عوامل امولسیون‌کننده، میزان نیروهای بینابینی عمل‌کننده در سطح قطرات فاز پراکنده، اندازه قطرات فاز پراکنده، گرانروی فاز پیوسته، و اختلاف چگالی فازهای پراکنده و پیوسته دارد. علاوه بر عوامل یاد شده، به‌طور کلی چهار سازوکار (مکانیسم) با عناوین پایداری الکترواستاتیکی، پایداری فضایی، پایداری به‌وسیله ذرات جامد، و پایداری از طریق افزایش گرانروی در ایجاد پایداری و ثبات امولسیون‌ها حائز اهمیت هستند (McClements, 1999; Tadros et al., 2004). معمولاً پایداری الکترواستاتیکی به‌وسیله نیروهای جاذبه واندروالسی و نیروهای دافعه حاصل از انتشار بارهای الکتریکی در سطح مشترک فازها ایجاد می‌گردد. پایداری فضایی نیز هنگامی اتفاق می‌افتد که علاوه بر آب و روغن، درشت مولکول‌ها (بیوپلیمرها یا زیست‌بسپارها) نیز در سامانه امولسیون وجود داشته باشند. در این حالت، درشت مولکول‌ها روی سطح قطرات امولسیون جذب می‌شوند، به طوری که یک بخش کوچک

از درشت مولکول در قسمت سطحی قطره روغن و قسمت اعظم ساختمان هیدراته آن در فاز آبی باقی می‌ماند. به این ترتیب، با استقرار فازها، بین قطرات روغن و فاز آبی اتصال برقرار می‌شود. در ضمن، جذب سطحی ذرات بسیار ریز در سطح مشترک فازهای پراکنده و پیوسته نیز قادر است از طریق ایجاد تعادل انرژی در سطح مشترک فازهای جامد- مایع و مایع- مایع سبب پایدارسازی امولسیون شود.

همچنین، افزایش گرانروی فاز پیوسته موجب ثبات و پایداری امولسیون می‌شود (Dickinson, 2009). Pezeshky Najafabad و همکاران (۲۰۱۸)، بیان نمودند پایداری سیستم نانوامولسیون تولیدی نسبت به تفکیک گرانشی هم می‌تواند به اندازه کوچک قطره‌ها نسبت داده شود، زیرا سرعت خامه‌بستن یک قطره لیپیدی با افزایش شعاع قطره افزایش می‌یابد (Pezeshky Najafabadi et al., 2018).



شکل ۵- بررسی پایداری در نمونه‌های مختلف نانو امولسیون تهیه شده از روغن کنجد و روغن بادام شیرین

Fig. 5. Investigation of stability in different samples of nanoemulsion prepared from sesame oil and sweet almond oil

در رسیدگی استوالد، مولکول‌های روغن از قطره‌های کوچک، از طریق فاز آبی به قطره‌های درشت‌تر انتشار می‌یابند. به این ترتیب قطره‌های کوچک، کوچک‌تر و قطره‌های بزرگ، بزرگ‌تر می‌شوند و به تدریج در طول زمان، اندازه متوسط قطره‌ها در امولسیون یا نانوامولسیون افزایش می‌یابد. در عمل مهم‌ترین عاملی که پایداری نانوامولسیون به رسیدگی استوالد را تعیین می‌کند، حلالیت روغن در فاز آبی است (McClements, 2005). اگر نانوامولسیون با روغن‌هایی تولید شود که عمدتاً متشکل از تری‌آسیل گلیسرول‌های زنجیر کوتاه باشد، نسبت به رسیدگی استوالد مقاوم نخواهد بود. با انتشار مولکول‌های فاز پراکنده از قطره‌های ریز به درشت، به تدریج غلظت این ترکیبات درون قطره‌های ریز افزایش می‌یابد (Ostertag et al., 2012). سرعت خامه‌بستن یک قطره لیپیدی با افزایش قطر قطره‌ها افزایش می‌یابد. بنابراین امولسیون‌های حاوی قطره‌های بزرگ‌تر سریع‌تر از آنهایی که حاوی قطره‌های کوچک‌تر هستند، خامه خواهند بست (McClements, 2005). Pezeshky Najafabad و همکاران (۲۰۱۸) بیان نمودند نمونه‌های که حاوی قطره‌های بزرگ‌تر بوده‌اند و یا پس از گذشت زمان دچار افزایش در میانگین قطر قطره‌ها شده‌اند که این امر به احتمال زیاد متاثر از کاهش غلظت سورفاکتانت در آنهاست، می‌توانند نسبت به خامه‌بستن ناپایدار باشند (Pezeshky Najafabadi et al., 2018). با توجه به وابستگی فاکتور پایداری نانوامولسیون‌ها با خصوصیات فیزیکوشیمیایی روغن مانند نوع ساختار و ساختمان زنجیره‌های روغن، کشش سطحی، ویسکوزیته ، حلالیت روغن در آب و رفتار فازی روغن ها، نانوامولسیون تهیه شده بر پایه روغن کنجد، در غلظت پایین‌تر روغن و نسبت بالاتر امولسیفایر اسپن به توین از پایداری بالاتری در مقایسه با روغن بادام شیرین برخوردار است. زمان هموژنیزاسیون و نسبت غلظت امولسیفایر اثر مثبت و غلظت روغن تاثیر منفی بر اندازه ذرات امولسیون دارند. بنابراین می‌توان چنین برداشت کرد که در نسبت‌های پایین غلظت امولسیفایر، میزان امولسیفایر به‌منظور پوشش دادن سطح تمام قطرات کافی نبوده و همین مسئله سبب شده است در غلظت‌های پایین نسبت غلظت امولسیفایر، شاهد ناپایداری بیشتری در امولسیون‌ها باشیم. طبق نتایج ، نمونه k_4 با حضور روغن کنجد در غلظت ۲٪ و غلظت امولسیفایر ۰/۵٪ با ۹۸/۷٪ بالاترین میزان پایداری را داشت.

پتانسیل زتا

پتاسیل زتا در نمونه‌های مختلف نانو امولسیون تهیه شده از روغن کنجد و روغن بادام شیرین در شکل ۶ آورده شده است. همانگونه که در شکل مشاهده می‌شود، تمامی نمونه‌ها با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارد ($p<0.05$)، به‌طوری که کمترین و بیشترین میزان پتاسیل زتا به ترتیب مربوط به نمونه B_5 (روغن بادام ۴ درصد، زمان همگن‌سازی ۵ دقیقه و نسبت غلظت امولسیفایر ۰/۵ درصد) و K_4 (روغن کنجد ۲ درصد، زمان همگن‌سازی ۱۰ دقیقه و نسبت غلظت امولسیفایر ۰/۵ درصد) بود.



شکل ٦- بررسی پتاسیل زتا در نمونه‌های مختلف نانو امولسیون تهیه شده از روغن کنجد و روغن بادام شیرین
Fig. 6. Investigation of zeta potential in different nanoemulsion samples prepared from sesame oil and sweet almond oil

پتاسیل زتا معیاری از بار کلی روی سطح ذرات است، هرچه اندازه بارهای همنام روی سطح قطره‌ها و ذرات موجود در سیستم بیشتر باشد، نیروی دافعه بین آنها بیشتر می‌شود. سطح ذرات و قطره‌ها در سیستم های کلوئیدی، به دلیل ماهیت ذاتی و یا جذب لایه سورفاکتانت یونی، دارای بار الکتریکی است. بار الکتریکی قطره‌ها به عواملی چون نوع و غلظت سورفاکتانت مورد استفاده روی سطح قطره‌ها و شرایط محیطی (pH، دما و قدرت یونی) بستگی دارد. شایان ذکر است که پتانسیل زتای کم تر از ۳۰- و بیشتر از ۳۰+ میلی‌ولت بیانگر ایجاد شرایط مناسب برای جلوگیری از از وقوع پدیده‌های ناپایداری مانند به‌هم‌پیوستگی و یا در هم آمیختگی قطرات می‌باشد. در این شرایط قطرات روغن به دلیل ایجاد نیروهای دافعه ای تمایل به نزدیک شدن، به هم پیوستن و تجمع ندارند که این موضوع تاثیر مثبتی بر پایداری امولسیون می‌گذارد (Emadzadeh et al., 2015). افزایش غلظت و ظرفیت الکترولیت‌ها (بیشتر یون‌های نمکی) و ترکیبات باردار یونیزه موجود در محیط باعث افزایش قدرت یونی محیط می‌شود که این افزایش، باعث کاهش نیروی‌های دفعی الکترواستاتیک و در نتیجه باعث افزایش ناپایداری می‌شود و احتمال انبوهش قطره‌ها افزایش می‌یابد (Pezeshky Najafabadi et al., 2018). مطابق نتایج، پتانسیل زتا در نمونه k_4، ۳۳- میلی‌ولت برای نانوامولسیون تهیه شده توسط روغن کنجد گزارش گردید که مبین ایجاد شرایط مساعد به‌منظور پایداری بالاتر این تیمار می‌باشد. Thanida و همکاران (۲۰۱۹)، در بررسی اثر غلظت سورفاکتانت بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و عملکردی نانوامولسیون های کورکومین تحت شرایط مربوط به استفاده تجاری دریافتند که با افزایش غلظت و ترکیب توین ۸۰ و لستین، پتانسیل زتا کاهش یافت. در واقع توین ۸۰ با کاهش کشش سطحی را در طول فرایند امولسیفیکاسیون کاهش خواهد داد (Thanida et al, 2019). Hong و همکاران (۲۰۱۸) در بررسی نسبت آب دوستی به چربی دوستی HLB[9] بر خصوصیات امولسیون روغن در آب دریافتند که مقادیر پتانسیل زتا در یک امولسیون پایدار بالا و در زمان ناپایداری(آگلومریزاسیون و فلوکولاسیون قطرات)، پایین خواهد بود.امولسیون‌های با اندیس HLB بیشتر از ۱۱، اندیس زتا پتانسیل

[9] Hydrophilic Lipophilic Balance

بالاتری نسبت به امولسیون‌های با اندیس HLB کمتر از ۱۰ دارند (Hong et al, 2018).

نتیجه‌گیری

فاکتورهای فیزیکوشیمیایی مختلفی روی تولید، خواص فیزیکوشیمیایی، رئولوژی و پایداری قطره‌های امولسیون مؤثر بوده و ویژگی‌های آنهتپا را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در این بررسی از روغن کنجد و روغن بادام شیرین به‌عنوان ترکیبی فراسودمند جهت تولید نانوامولسیون‌های روغن در آب استفاده شد. پس از تهیه نانوامولسیون، با تغییر پارامترهای غلظت روغن و امولسیفایر طی دو زمان همگن سازی، برخی خصوصیات و ویژگی‌ها مانند قطر ذرات، شاخص پراکنش ذرات، نرخ کاهش کدورت، پایداری و پتاسیل زتا، به‌منظور انتخاب نانوامولسیون مناسب مورد بررسی قرار گرفت. طبق نتایج با استفاده از امولسیفایر غیریونی اسپن و تویین ۸۰ در غلظت ۰/۵٪ و فاز روغنی کنجد با غلظت ۲٪، تولید ذراتی در اندازه ۲۰۰ نانومتر، همراه با پایداری مناسب امکان‌پذیر است. نتایج نشان داد، میزان اندازه ذرات، میانگین قطر ذرات و نرخ کاهش کدورت نمونه ها، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشته، به‌طوری که کمترین و بیشترین مقادیر به‌ترتیب متعلق به نمونه K_4 (روغن کنجد ۲ درصد، زمان همگن‌سازی ۱۰ دقیقه و نسبت غلظت امولسیفایر ۰/۵ درصد) و B_5 (روغن بادام ۴ درصد، زمان همگن‌سازی ۵ دقیقه و نسبت غلظت امولسیفایر ۰/۵ درصد) گزارش گردید ($p<0.05$). همچنین، نانوامولسیون بهینه تولید شده (k_4)، از نتایج قابل قبولی در میزان پایداری و پتانسیل زتا به‌ترتیب با مقادیر ۹۸/۷٪ و ۳۳- میلی‌ولت برخوردار بود .

منابع

1. Buffo, R. A., Reineccius. G. A., Oehlert, G. W. (2001). Factors affecting the emulsifying and rheological properties of gum acacia in beverage emulsions. *Journal of Food Hydrocolloid*. 15: 53-66. 14. https://doi.org/10.1016/S0268-005X(00)00050-3
2. Chanamai, R., McClements, D. J. (2001). Depletion Flocculation of Beverage Emulsions by Gum Arabic and Modified Starch. *Journal of Food Science*. 66 (3): 457-63.
3. Coupland, J. N., McClements, D. J. (2001). Droplet size determination in food emulsions: comparison of ultrasonic and light scattering. *Journal of Food Engineering*. 50: 1117-20. https://doi.org/10.1016/S0260-8774(00)00201-6
4. Dickinson, E. (2009). Hdrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. *Journal of Food Hydrocolloids*. 23: 1473–1482. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.08.005
5. Deman, J. M. (1990). *Principles of Food Chemistry*. (2nd Ed). Van Nostrand Reinhold. New York.
6. Emadzadeh, B., Kadkhodaee, R., Khalesi, H. (2015). The effect of Persian gum and thermal process on the properties of emulsion stabilized by whey protein concentrate. *Journal of Innovative Food Technologies*.13:103-119
7. Fatouros, D. G., Antimisiaris, S. G. (2002). Effect of amphiphilic drugs on the stability and zeta-potential of their liposome formulations: a study with prednisolone, diazepam, and griseofulvin. *Journal of Colloid and Interface Science*. 251(2):271-277. https://doi.org/10.1006/jcis.2002.8432
8. Floury, J., Desrumaux, A., Lardie`res, J. (2007). Effect of high pressure homogenization on droplet size distributions and rheological properties of model oil-in-water emulsions. *Journal of Innovative Food Science Emerg Technology*. 1: 127-34. https://doi.org/10.1016/S1466-8564(00)00012-6
9. Homayounfal , M., Khodaeian, F, Mousavi, S. M., Hosseini Panjaki, S. M. (2013). Preparation and evaluation of properties of emulsions based on walnut oil. *Journal of. Iranian Food Science and Technology*.8(2).PP:191-199.
10. Ghanbarzadeh, B., Almasi, H., NikNia, N. (2013). Chemistry and physics of colloidal systems and food biopolymer solutions .Sharif University of Technology, Scientific Publishing Institute
11. Ghomashchi, T. (2007). Emulsion Technology. University of Tehran Publishing.
12. Gutierrez, J. M., Gonzalez, C., Maestro, A., Sole, I., Pey, C. M. and Nolla, J. (2008). Nanoemulsions: New applications and optimization of their preparation. *Journal of Current Opinions in Colloid & Interface Science*. 13: 245–251. https://doi.org/10.1016/j.cocis.2008.01.005
13. Gharibzahedi, S. M. T, Mousavi S. M, Hamedi M, Ghasemlou M. (2012). Response surface modeling for optimization of formulation variables and physical stability of walnut oil-in-water beverage emulsions. *Journal of Food Hydrocolloid*. 26: 293-301. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.06.006
14. Guttoff, M., Saberi, A. H., McClements, D. J. (2015). Formation of vitamin D nanoemulsion-based delivery systems by spontaneous emulsification: factors affecting particle size and stability. *Journal of Food Chemistry*, 171:117-122. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.087
15. Harnsilawat, T., Pongsawatmanit, R., McClement, D. J. (2006). Stabilizing of model beverage cloud emulsions using protein-polysaccharide electrostatic complexes formed at the oil-water interface ". *Journal of Agriculture Food Chemistry*. 54: 5540-47. https://doi.org/10.1021/jf052860a

16. Hong, K., Kim, S., Seung Bum, L. (2018). Effects of HLB value on oil-in-water emulsions: droplet size, rheological behavior, zeta-potential, and creaming index. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. Accepted Manuscript. https://doi.org/10.1016/j.jiec.2018.06.022
17. Jacobsen, C. (2010). Enrichment of foods with omega-3 fatty acids: a multidisciplinary challenge. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1190(1): 141-150.
18. Kentish S, Wooster T. J, Ashokkumar W, Paul T, McClements D. J. (2006). Functional materials in food nanotechnology ". *Journal of Food Science*. 71 (9): 107-16.
19. Kourniatis. L. R, Spinelli. L. S, Mansur R. E. (2010). Formation of orange oil in water nanoemulsions using nonionic surfactant mixture by high pressure homogenizer. *Colloidal journal*. 72 (3): 396- 402.
20. Karbstein. S, Schubert. H. (1995). The use of ultrasonics for nanoemulsion preparation. *Journal of Innovationin Food Science. Emerg. Technology*. 9: 170-175.
21. Komaiko, J., McClements, D. J. (2014). Optimization of isothermal low-energy nanoemulsion formation: Hydrocarbon oil, non-ionic surfactant, and water systems. *Journal of Colloidal and Interface Science*.425:59-66. https://doi.org/10.1016/j.jcis.2014.03.035
22. Leong, T. S. H., Wooster, T. J., Kentish, S. E., and Ashokkumar, M. (2009). Minimising oil droplet size using ultrasonic emulsification. *Journal of Ultrason. Sonochemistry*. 16: 721–727. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2009.02.008
23. Li, P. H. and Chiang, B. H. (2012). Process optimization and stability of D-limonene-in water nanoemulsions prepared by ultrasonic emulsification using response surface methodology. *Journal of Ultrason. Sonochem*. 19: 192–197. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2011.05.017
24. Masah, M., Ghanbarzadeh, B., Hamishe Kar, H., Soti Khiabani, M. (2013). The Effect of alpha-tocopherol-containing oil phase in the production of nano-emulsion using low-energy method *twenty-first National Congress of Food Science and Technology*.
25. McClements, D. J. (1999). Foods Emulsions: Principles, Practice, and Techniques. Florida: CRC Press LLC.
26. McClements, D. J. (2005). Food Emulsions: Principles, Practice and Technology. CRC Press: Boca Raton, Florida.
27. Mirhosseini, H., Tan, C. P., Abdul hamid, N. S., Yusof, S. (2008). Effect of Arabic gum, xanthan gum and orange oil on flavor release from diluted orange beverage emulsion. *Journal of Food chemistry*. 107: 1161-72. https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2007.07.007
28. Ostertag, T., Weiss, J., McClements, D. J. (2012). Low-energy formation of edible nanoemulsions: factors influencing droplet size produced by emulsion phase inversion. *Journal of Colloid and Interface Science*. 388(1): 95-102. https://doi.org/10.1016/j.jcis.2012.07.089
29. Pezeshky Najafabadi, A., Hashemi, F. S., Marandi, A., Gharedaghi, K., Jalali, S. H. (2018). Factors Affecting the Production and Stability of Optimal Formulation of Nanoemulsion Containing Vitamin A and D by Spontaneous Production. *Journal of Research and Innovationin Food Science and Technology*. Vol 7 (3). 255-268
30. Qian, C., Decker, E. A., Xiao, H., McClements, D. J. (2011). Comparison of biopolymer emulsifier performance in formation and stabilization of orange oil-in-water emulsions. *Journal of Am Chem Soc*. 88:47-55. https://doi.org/10.1007/s11746-010-1658-y
31. Rao, J. and McClements, D. J. (2011). Formation of flavor oil microemulsions, nanoemulsions and emulsions: Influence of composition and preparation method. *Journal of. Agric. Food Chemistry*. 59: 5026–5035. https://doi.org/10.1021/jf200094m
32. Saberi, A. H., Fang, Y., & McClements, D. J. (2013). Fabrication of vitamin E-enriched nanoemulsions: factors affecting particle size using spontaneous emulsification. *Journal of Colloid and Interface Science*. 391:95-102. https://doi.org/10.1016/j.jcis.2012.08.069
33. Solans, C., Izquierdo, P., Nolla, J., Azemar, N., & Garcia-Celma, M. J. (2005). Nano-emulsions. Current opinion in colloid & interface science, 10(3-4), 102-110. https://doi.org/10.1016/j.cocis.2005.06.004
34. Silva, H. D., Cerqueira, M. N., Vicente, A. A. (2012). Food Bioprocess Technology. 5: 854–867.
35. Taherian AR, Fustier P, Ramaswamy HS. (2006). Effect of added oil and modified starch on rheological properties, droplet size distribution, opacity and stability of beverage cloud emulsions ". *Journal of Food Engineering*. 77: 687-96. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.06.073
36. Tadros, T., Izquierdo, P., Esquena, J. and Solans, C. (2004). Formation and stability of nano-emulsions. Adv. *Colloid Interface Science*. 108–109: 303–318. https://doi.org/10.1016/j.cis.2003.10.023
37. Unji. M, Ueda. H, Ogata. M, Nakagaki. M. (1994). Studies on the oil in water emulsions stabilized with gum Arabic by using the turbidity ratio method. *Yakugaku Zasshi*. 112: 906–13.
38. Thanida, C., Prasongsuk, S., Sabliov, C. M. (2019). Effect of Surfactant Concentrations on Physicochemical Properties and Functionality of Curcumin Nanoemulsions under Conditions Relevant to Commercial Utilization. *Molecules*, 24, 2744.